

大黄素前列腺癌抗肿瘤作用机制研究进展

赵一俊 邓 刚 马立彬 于志坚

大黄素(emodin, EM)是一种蒽醌类物质,是蓼科植物掌叶大黄、唐古特大黄或药用大黄的有效成分之一,分子式为: $C_{15}H_{10}O_5$,化学名为:1,3,8-三羟基-6-甲基蒽醌(1,3,8-trihydroxy-6-methylantraquinone)。研究证明大黄素具有多种生物学作用,包括抑菌、抗炎、保护肝肾功能、抑制血小板聚集、改善微循环、抗癌等,具有较好的临床应用价值^[1]。本文主要综述大黄素在细胞凋亡、细胞周期、对化疗药物增敏作用、对肿瘤血管生成及转移等作用机制以及在抗前列腺癌中的研究进展。

一、诱导肿瘤细胞凋亡

正常细胞凋亡的机制失调或破坏是肿瘤发生发展的一个重要原因。大黄素诱导细胞凋亡的机制是通过激活 caspase 来引起多种肿瘤细胞系的凋亡^[2-4]。有研究表明其机制是来源于半醌的活性氧(reactive oxygen species, ROS)所介导的^[5]。因为大黄素的结构中含有醌,被活化后生成中间产物半醌基团,再与氧发生反应而生成 ROS,产生的 ROS 进一步造成线粒体损伤,降低线粒体的跨膜电位,释放细胞色素 C,进而激活 caspase,从而导致肿瘤细胞的凋亡。

Bcl-2 家族蛋白在细胞凋亡的调节中发挥重要的调控机制。这个家族中的有些成员,如 Bcl-2 和 Bcl-X_L,起抑制细胞凋亡作用,然而其他成员如 Bax 和 Bid 则促进细胞凋亡。在许多细胞凋亡系统中,细胞的命运取决于这两个集团的平衡。研究表明,大黄素诱导雄激素依赖性前列腺癌 LNCaP 细胞的凋亡表现与 Bax 表达的上升及 Bcl-2 表达的下降有关。这个结果与先前那些在多种刺激因子作用下 Bax 过度表达和 Bcl-2 下降诱导细胞凋亡的研究结果一致,这些刺激因子包括紫杉酚和冬凌草素等化疗药物。caspases 属于半胱氨酸蛋白水解酶家族,在细胞凋亡中扮演关键作用^[6]。大黄素作用的 LNCaP 细胞中 Bax/Bcl-2 比率上升,使 caspase-3 和 caspase-9 表

达增加,从而通过线粒体途径诱导 LNCaP 细胞凋亡。

二、调节细胞周期

肿瘤细胞恶性增殖的根本原因是细胞周期调控失衡。大黄素能影响细胞周期,使多种癌细胞滞留在 G₂/M 期,其机制为 P53、P21 蛋白表达的上调,或者降低 Cyclin B1 的表达,从而使细胞周期停滞^[7-9]。

P53 蛋白是一种转录因子并且调控许多参与细胞周期进程、细胞凋亡和血管生成的生长调控基因表达。它是一种主要的抑癌基因,能诱导下游靶基因 P21 抑制细胞周期,并且产生细胞生长停滞,在细胞和分子信号级联放大,引导自我损伤的细胞中产生致命的 DNA 损伤中起着关键性的作用。大黄素不仅降低雄激素受体(androgen receptor, AR)和 PSA 的表达,还增加了 LNCaP 细胞中 P53 和 P21 的表达,从而使细胞周期停滞在亚 G₁ 节点。大黄素诱导的 LNCaP 细胞增殖抑制主要通过 AR 和 P53-P21 通路:通过 AR 的功能和表达的抑制,增加 P53 和 P21,进而抑制 LNCaP 细胞的增殖。

和 LNCaP 细胞相比较,雄激素非依赖性前列腺癌 PC3 细胞对大黄素介导的增殖抑制具有更高耐药性。同样通过大黄素处理过的 LNCaP 细胞和 PC3 细胞,经过流式细胞测定和 DNA 片段测定,PC3 组却没有发现 G₁ 期前峰值和 DNA 片段^[10]。大黄素在 PC3 细胞中对于细胞周期的影响尚待进一步研究。

三、对化疗药物的增敏作用

大黄素与化疗药物联用能增加癌细胞对化疗药物的敏感性^[11,12]。实验表明,大黄素逆转肿瘤细胞多药耐药作用与抑制核苷转运、降低 P-糖蛋白的功能和表达有关。

肿瘤细胞的多药耐药性(multiple drug resistance, MDR)是化疗效果差的主要障碍。大黄素可以加强前列腺癌细胞化疗药物的细胞毒性。无论在体外还是体内,大黄素能够加强多种化疗药物抗前列腺肿瘤作用,其主要原因是,活性氧簇(ROS)的增加和对 ROS 介导的 HIF-1 对于缺氧反应的抑制。大黄素作为 ROS(活性氧)发生器,被应用于和顺铂等其他化疗药物联合治疗,作用于多药耐药性前列腺癌细胞

基金项目:浙江省中医药科技研究计划基金资助项目(2011ZB099)

作者单位:310006 杭州市第一人民医院泌尿外科

通讯作者:邓刚,电子信箱:dfg3261@yahoo.com.cn

系 DU - 145 细胞和正常人表皮成纤维细胞时,与顺铂单药治疗相比,大黄素/顺铂联合治疗能显著提高 ROS 水平,并且增加在 DU - 145 细胞的化学敏感性,但对于非肿瘤细胞表现出很少的影响。细胞内 ROS 的水平被发现与癌细胞的化疗敏感性紧密相关。增加 ROS 的产生能促进抗肿瘤药物的细胞毒性反应,然而当细胞内 ROS 的低水平能使肿瘤细胞对于化疗反应变差。此外,调控肿瘤细胞的氧化还原状态来增强药物的细胞毒性作用被认为是一种有潜力的治疗策略。大黄素既不是通过引起低氧诱导因子 - 1 (hypoxia inducible factor - 1, HIF - 1) α mRNA 表达的下调也不是改变 HIF - 1 α 蛋白的稳定性来抑制 HIF - 1 的反式激活,而是通过对缺氧刺激条件下 HIF - 1 反式激活的显著抑制来引起氧化还原状态的改变。联合治疗时大黄素能使 HIF - 1 钝化反作用使其下游的 MDR1 基因表达抑制,从而直接引起肿瘤细胞中的药物积蓄作用。

四、对肿瘤血管生成及转移的影响

MMP - 2、VEGF - A 刺激的尿激酶型纤维蛋白酶原激活剂受体在肿瘤血管的发生中起关键作用。大黄素能够抑制 MMP - 2 的基础分泌以及 VEGF - A 刺激的尿激酶型纤维蛋白酶原激活剂受体的表达,对血管生成有显著性的抑制作用。EGF 在人体各种癌细胞系中诱导转移,大黄素通过抑制 PI₃K - Cdc42/Rac1 信号通路抑制肿瘤细胞转移,对于前列腺癌也不例外。

五、雄激素受体途径的作用

前列腺癌依赖 AR 来调节雄激素 (androgen receptor, AR) 在肿瘤发生和发展中的作用。大黄素对 AR 阳性的前列腺癌细胞具有显著的抑制增殖作用。研究表明大黄素能直接靶向 AR 去抑制前列腺癌细胞在体外生长和体内试验中延长 C3(1)/SV40 转基因小鼠的生存时间。大黄素的治疗作用是通过抑制 AR 核转录来抑制雄激素依赖的 AR 反式激活。大黄素导致 AR 和热休克蛋白 90 之间的结合减少,增加 AR 和 mdm - 2 之间的结合,这反过来诱导经过以配体非依赖方式的蛋白酶体介导途径的 AR 降解。

六、蛋白激酶 CK2 途径影响

蛋白激酶 CK2 (casein kinase - 2) 是一种重要的参与多种信号转导途径的激酶,在 LNCaP 细胞中,CK2 对于雄激素调节的信号转导有重要作用,CK2 可以干扰 AR 介导的信号传导。大黄素对于多种蛋白激酶具有抑制作用,大黄素具有极高敏感性和高特异

性的 CK2 抑制。研究表明大黄素抑制 CK2 而不影响 AR 途径的某些调节因子抑制作用,例如 GSK3 β ,最终导致 AR 转录的下降和 AR 蛋白表达的降低。CK2 参与雄激素介导的信号转导途径,抑制 CK2 导致 AR 依赖的转录下调,同时 AR 蛋白表达量也明显下降,引起前列腺癌细胞凋亡和增殖抑制。因为 AR 途径是参与前列腺癌发生和发展的决定因素之一,所以通过 CK2 途径调节 AR 可能提供一种可选择的前列腺癌治疗的新靶点。

七、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 2 途径影响

磷脂酰肌醇 - 3 - 激酶 (phosphatidylinositol 3 - kinase, PI₃K) 扩增、磷酸酯酶和张力蛋白同系物 (PTEN) 缺失引起 AKt 激活促进前列腺癌的进展。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白复合物 2 (mTOR complex 2, mTORC2) 的哺乳动物靶靶是一种包含 mTOR、Rictor、mSin1、mLST8/C β L 和 PRR5 和在 Ser473 的功能磷酸化的 Akt 的激酶复合体。研究表明 mTORC2 在雄激素抵抗的前列腺癌细胞 PC3 的增殖和锚着非依赖性生长中发挥重要作用^[13]。芦荟大黄素是在芦荟中发现的天然化合物,抑制 PC3 细胞的增殖和锚着非依赖性生长。蛋白含量分析提示芦荟大黄素处理后能够抑制 mTORC2、Akt 和 PKC α 下游底物的激活。Pull - down 含量分析和体外激酶测定结果提示芦荟大黄素在细胞中能 mTORC2 结合并且抑制激酶的活性。芦荟大黄素在无胸腺裸鼠模型的体内试验中表现出对肿瘤的抑制。

我们的数据提示 mTORC2 在前列腺癌的发展中扮演重要角色,芦荟大黄素通过靶向 mTORC2 的作用抑制前列腺癌的进展。

大黄素因为其具有广泛的抗肿瘤作用,被应用于多种肿瘤的治疗。研究表明,其对前列腺癌细胞亦有较好的抗肿瘤作用,相信随着研究的深入,大黄素在前列腺癌的临床应用价值会越来越大。

参考文献

- 1 黄金,田玲,程民,等. 大黄素药理作用研究进展[J]. 怀化医学学报,2008,7(1):68 - 69
- 2 Srinivas G, Anto RJ, Srinivas P, et al. Emodin induces apoptosis of human Cervical cancer cells through poly (ADP - ribose) polymerase cleavage and activation of caspase - 9[J]. Eur J Pharmacol, 2003, 473 (2 - 3):117 - 125
- 3 Jing X, Ueki N, Cheng J, et al. Induction of apoptosis in hepatocellular carcinoma cell lines by emodin[J]. Jpn J Cancer Res, 2002, 93 (8):874 - 882
- 4 Lee HZ. Effects and mechanisms of emodin on cell death in human lung squamous cell carcinoma[J]. Br J Pharmacol, 2001, 134(1):

11-20

- 5 Su YT, Chang HI, Shyue SK, *et al.* Emodin induces apoptosis in human lung adenocarcinoma cells through a reactive oxygen species - dependent mitochondrial signaling pathway[J]. *Biochem Pharmacol*, 2005, 70(2):229-241
- 6 Huang J, Wu LJ, Tashiro S, *et al.* Bcl-2 up-regulation and P-p53 down-regulation account for the low sensitivity of murine L929 fibrosarcoma cells to oridonin-induced apoptosis[J]. *Biol Pharm Bull*, 2005, 28(11):2068-2074
- 7 王心华, 甄永苏. 大黄素抑制人高转移巨细胞肺癌 PG 细胞的肿瘤转移相关性质[J]. *癌症*, 2001, 20(8):789-793
- 8 Shieh DE, Chen YY, Yen MH, *et al.* Emodin-induced apoptosis through p53-dependent pathway in human hepatoma cells[J]. *Life Sci*, 2004, 74(18):2279-2290
- 9 Kuo PL, Hsu YL, Nq LT, *et al.* Rhein inhibits the growth and induces

the apoptosis of Hep G2 cells[J]. *Planta Med*, 2004, 70(1):12-16

- 10 Yu CX, Zhang XQ, Kang LD, *et al.* Emodin induces apoptosis in human prostate cancer cell LNCaP[J]. *Asian J Androl*, 2008, 10(4):625-634
- 11 李慧, 杨洁, 康迅雷, 等. 大黄素提高砷剂抑癌效果的体内研究[J]. *上海第二医科大学学报*, 2005, 25(7):666-670
- 12 Huang XZ, Wang J, Huang C, *et al.* Emodin enhances cytotoxicity of chemotherapeutic drugs in prostate cancer cells[J]. *Cancer Biol Ther*, 2008, 7(3):468-475
- 13 Liu K, Park C, Li S, *et al.* Aloe-emodin suppresses prostate cancer by targeting the mTOR complex 2[J]. *Carcinogenesis*, 2012, [Epub ahead of print]

(收稿日期:2012-04-05)

(修回日期:2012-05-21)

乳腺癌癌前病变的筛查手段研究进展

杨 梓 张喜平 欧敬民

作为乳腺癌发生发展的重要阶段,从乳腺癌高危人群的角度看,筛查乳腺癌癌前病变比对乳腺癌的早期诊断更具有吸引力。在癌症的“多阶段发展模式”中,从“正常”到“非典型增生”的过程是可逆的,即逆转乳腺癌的癌前病变进一步预防乳腺癌的发生发展,这也是研究乳腺癌筛查手段的最终目标。本文以介绍国内外公认的普检三联手段为基础,结合阐述了活检术的最新进展,并介绍了一些对乳腺癌癌前病变具有特异性的筛查手段,希望对临床工作者有一定帮助。

一、乳腺良性疾病与乳腺癌癌前病变的相关性

癌变是一个复杂的发展过程,与饮食习惯、生活方式、职业环境、遗传学等方面息息相关,而这些因素最初对组织产生影响引起的乳腺疾病在一定程度上也可能提示癌变的发生发展,从而为及早发现乳腺癌的癌前病变提供线索。美国密尼苏达州曾对诊断为良性乳腺疾病的 9087 位女性患者进行随访,结果不明家族史的女性发展为乳癌的相对危险度为 1.18

(1.01~1.37),低家族遗传背景的女性相对危险度为 1.43(1.15~1.75),高家族遗传背景的女性相对危险度为 1.93(1.85~1.32),证明我们熟知的良性乳房病变与乳腺癌的发病风险相关^[1]。国内学者大多赞同 Dupont 等^[2]1985 年在新英格兰医学杂志上发表的超过 1 万例随访 17.5 年的结果,主要着力于研究乳腺的不典型增生与癌变的关系。就具体乳腺疾病来看,乳腺导管内乳头状瘤是导管上皮组织和间质的一种增生性改变,临床表现主要为乳头溢液和乳房肿块,已有临床实验研究表明它可能是癌前病变的一种形式,主张应早期手术,乳腺区段切除为治疗常用方法^[3]。

在乳腺增生病中普遍认为癌变发生率较低的乳腺囊肿,亦被报道有发生癌变的可能性^[4]。综上所述,为患有乳腺良性疾病的人群进行乳腺癌癌前病变的筛查,既可以避免误诊或延迟诊断的发生,又可以尽早的在癌变阶段早手术、早治疗,对于提高患者的生存率有极大的意义。

二、普检三联手段

本文所谓普检三联手段,即是指目前国内外公认的、在临床筛查乳腺癌癌前病变最常用到的 3 种手段:临床体格检查、全数字钼靶检查、超声检查。其三联意义在于这些手段各自有它们不可替代的地位。而影像学检查在临床筛查乳腺癌的癌前病变应用则

基金项目:浙江省 151 人才基金资助项目(2010382)

作者单位:310053 杭州,浙江中医药大学 2007 级中医 2 班(杨梓);310006 杭州,浙江省肿瘤医院乳腺肿瘤外科(张喜平);200092 上海交通大学医学院附属新华医院普外科(欧敬民)

通讯作者:张喜平,硕士生导师,电子信箱:zxp99688@vip.163.com;欧敬民,硕士生导师,电子信箱:jingminou@163.com